亚麻籽油对脂多糖刺激断奶仔猪肠黏膜结构和免疫细胞的影响

李先根　涂治骁　王树辉　王海波　张　琳　秦　琴　汪龙梅　王秀英　刘玉兰　朱惠玲[*1]

（武汉轻工大学动物营养与饲料科学湖北省重点实验室，武汉 430023）

摘　要：本试验旨在研究亚麻籽油对脂多糖（LPS）刺激断奶仔猪肠黏膜结构和免疫细胞的影响。选择24头（9.15±0.90） kg杜×长×大断奶仔猪，随机分为4组，每组6个重复，每个重复1头猪。试验采用2×2因子设计，主因子包括：1）饲粮处理（5%玉米油或5%亚麻籽油）；2）免疫应激（注射生理盐水或LPS）。饲粮中添加5%玉米油或5%亚麻籽油饲喂21 d，在试验第21天，每组1/2的猪腹膜注射100 μg/kg BW的LPS，另外1/2的猪腹膜注射等量生理盐水。注射LPS或生理盐水4 h后，将仔猪麻醉屠宰，取肠道样品待测。结果表明：1）LPS刺激显著降低了空肠、回肠绒毛高度和空肠隐窝深度（P<0.05），显著提高空肠固有层细胞密度和嗜中性粒细胞数目（P<0.05），有降低空肠上皮间淋巴细胞数目和回肠杯状细胞数目的趋势（P<0.10）；2）LPS刺激对亚麻籽油组仔猪空肠、回肠绒毛高度无显著影响（P>0.05）；饲粮添加5%亚麻籽油有提高回肠派氏结细胞密度的趋势（P<0.10），且在LPS刺激下，显著降低空肠固有层细胞密度（P<0.05），并有增加空肠上皮间淋巴细胞数目的趋势（P<0.10）。结果提示，5%亚麻籽油在一定程度上可维护LPS刺激断奶仔猪的小肠黏膜结构和免疫功能。

关键词：亚麻籽油；断奶仔猪；脂多糖；肠黏膜免疫细胞

中图分类号：S828　　文献标识码：A　　文章编号：

肠道是机体主要的消化器官，也是最大的防御屏障，可以有效抵御细菌、病毒和异源蛋白等有害物质的入侵[1-2]。早期断奶、热应激、细菌、病毒和异源蛋白等有害物质会造成仔猪肠黏膜屏障功能的损伤，受损的肠黏膜通透性增强，从而使肠道内的有害物质穿过肠黏膜进入循环系统，损伤机体的组织和器官[3-4]，最终导致仔猪生长缓慢，甚至死亡。因此，通过营养调控的手段来改善肠黏膜结构和功能，对维持肠道健康具有重要意义。

亚麻籽油主产于内蒙、山西、甘肃等地，含有丰富 的α–亚麻酸（ALA）。研究表明α–亚麻酸可转化为鱼油的有效成分——二十碳五烯酸（EPA）和二十二碳六烯酸（DHA）[5]。大量研究发现，EPA和DHA具有有效改善动物肠黏膜屏障功能和抗炎的作用[6]。但是，亚麻籽油对肠黏膜屏障的作用还存在争议[7]。因此，本试验用脂多糖（LPS）来建立肠道受损

收稿日期：2017－08－21

基金项目：湖北省教育厅优秀中青年科技创新团队项目（T201508）

作者简介：李先根（1993–），男，湖北十堰人，硕士研究生，从事猪的营养与免疫的研究。E-mail: 823052910@qq.com

*通信作者：朱惠玲，副教授，硕士生导师，E-mail: zhuhuiling2004@sina.com

模型，研究亚麻籽油对 LPS 刺激导致的仔猪肠黏膜结构功能的损伤是否有保护作用。

1 材料与方法

1.1 试验动物与设计

按照体重[（9.15±0.90） kg]进行完全随机区组设计，把 24 头杜×长×大三元杂交断奶仔猪分成 4 组，每组 6 个重复，每个重复 1 头。试验采用 2×2 因子设计，主因子包括：1）饲粮处理（5%玉米油或 5%亚麻籽油）（玉米油购买于山东西王食品有限公司，亚麻籽油购买于甘肃陇郁香油工业有限公司）；2）免疫应激（注射生理盐水或 LPS）（LPS 购买于 Sigma 公司，大肠杆菌血清型 O55∶B5）。得到的 4 个组分别为：1）5%玉米油+生理盐水组（Ⅰ组）；2）5%玉米油+LPS 组（Ⅱ组）；3）5%亚麻籽油+生理盐水组（Ⅲ组）；4）5%亚麻籽油+LPS 组（Ⅳ组）。

试验猪饲粮添加 5%玉米油或 5%亚麻籽油饲喂 21 d，在第 21 天，Ⅱ组和Ⅳ组的仔猪腹膜注射 100 μg/kg BW 的 LPS，Ⅰ组和Ⅲ组的仔猪腹膜注射等量生理盐水。基础饲粮参照 NRC（1998）进行配制，其组成及营养水平见表 1，试验所用玉米油和亚麻籽油脂肪酸组成见表 2。

表 1 基础饲粮组成及营养水平（风干基础）

Table 1 Composition and nutrient levels of the basal diet (air-dry basis) %

项目 Items	含量 Content
原料 Ingredients	
玉米 Corn	56.00
豆粕 Soybean meal	22.00
麸皮 Wheat bran	3.00
鱼粉 Fish meal	5.50
玉米油或亚麻籽油 Corn oil or flaxseed oil	5.00
大豆浓缩蛋白 Soy protein concentrate	2.50
代乳粉 Milk replacer	3.00
石粉 Limestone	0.70
磷酸氢钙 $CaHPO_4$	1.00
食盐 NaCl	0.20
赖氨酸 Lysine	0.27
酸化剂 Acidifier	0.20
抗氧化剂 Antioxidant	0.05
防腐剂 Preservative	0.05
甜味剂 Sweetener	0.03
预混料 Premix1)	0.50
合计 Total	100.00
营养水平 Nutrient levels2)	
消化能 DE/(MJ/kg)	14.00

粗蛋白质 CP	20.20
钙 Ca	0.90
总磷 TP	0.70
赖氨酸 Lys	1.35
蛋氨酸+半胱氨酸 Met+Cys	0.72

1)预混料为每千克饲粮提供 Premix provided the following per kg of the diet：VA 12 000 IU，VD_3 2 500 IU，VE 30 IU，VK_3 3 mg，VB_{12} 18 μg，核黄素 riboflavin 4 mg，烟酸 nicotinic acid 40 mg，泛酸 pantothenic acid 15 mg，氯化胆碱 choline chloride 400 mg，叶酸 folic acid 700 μg，VB_1 1.5 mg，VB_6 3 mg，生物素 biotin 100 μg，Zn 80 mg，Mn 20 mg，Fe 83 mg，Cu 25 mg，I 0.48 mg，Se 0.36 mg。

2)消化能、赖氨酸、蛋氨酸+半胱氨酸为计算值，其余为实测值。DE, Lys and Met+Cys were calculated values, while the others were measured values.

表 2 玉米油和亚麻籽油脂肪酸组成

Table 2 Fatty acid composition of corn oil and flaxseed oil %

脂肪酸 Fatty acids	玉米油 Corn oil	亚麻籽油 Flaxseed oil
C14:0	0.3	0.3
C16:0	14.3	10.1
C16:1n-7	0.4	0.4
C18:0	2.4	3.6
C18:1n-9	27.3	21.4
C18:2n-6	50.6	28.1
C18:3n-3	1.4	32.8
C20:4n-6	0.1	0.1
C20:5n-3	0.4	0.4
C22:6n-3	0.9	0.2
总 n-6 多不饱和脂肪酸 Total n-6 PUFA	50.7	28.2
总 n-3 多不饱和脂肪酸 Total n-3 PUFA	2.7	33.4
n-6 多不饱和脂肪酸/n-3 多不饱和脂肪酸 n-6 PUFA/n-3 PUFA	18.8	0.8

1.2 样品采集

LPS 是革兰氏阴性菌的膜成分，对动物具有强烈的毒性。研究表明，在注射后 3~6 h，LPS 会引起急性肠道形态损伤和肠道屏障功能的崩溃[8-10]。因此，本试验选择了注射 4 h 后的时间点进行采样。在试验第 21 天上午，按上述分组注射生理盐水和 LPS 4 h 后，仔猪颈部肌肉注射麻醉剂（戊巴比妥钠，80 mg/kg BW），然后屠宰，迅速取出空肠和回肠中段，放入 4%多聚甲醛中固定，进行苏木精－伊红（HE）染色。

1.3 检测指标及方法

1.3.1 组织形态学分析

取肠道组织切片，在 Olympus 光学显微镜 10×10 倍光镜下，每张切片选取 10 根最长且完好的绒毛，测量其绒毛高度（绒毛顶端到肠腺开口的垂直高度）和隐窝深度（肠腺基部到肠腺开口的距离），取平均值，并计算绒毛高度/隐窝深度值。

1.3.2 上皮间淋巴细胞和杯状细胞计数

取肠道组织切片，在 Olympus 光学显微镜 40×10 倍光镜下，每张切片选取 6 根完好的绒毛，对绒毛和隐窝内肠上皮细胞、上皮间淋巴细胞、杯状细胞进行计数，取平均值，计算上皮间淋巴细胞/肠上皮细胞值和杯状细胞/肠上皮细胞值。

1.3.3 嗜中性粒细胞计数

取肠道组织切片，在 Olympus 光学显微镜 40×10 倍光镜下，每张切片选取 6 个固有层视野，测量每个视野的面积，并对视野中嗜中性粒细胞进行计数，取平均值，计算该切片嗜中性粒细胞密度。

1.3.4 固有层细胞计数

取肠道组织切片，在 Olympus 光学显微镜 40×10 倍光镜下，每张切片选取 6 根完好的绒毛，测量每根绒毛上固有层面积，并对固有层内的细胞进行计数，取平均值，计算该切片固有层细胞密度。

1.3.5 回肠派氏结（Peyer's patch）细胞计数

取回肠组织切片，在 Olympus 光学显微镜 40×10 倍光镜下，每张切片选取 6 个视野，测量每个视野面积，并对视野中派氏结细胞进行计数，取平均值，计算该切片派氏结细胞密度。

1.4 统计分析

试验结果采用 SPSS 17.0 统计软件进行双因素方差分析。模型主效应包括饲粮处理、免疫应激及二者的互作关系。当有互作关系时，采用 Duncan 氏多重比较。以 $P<0.05$ 为显著性标准，以 $P<0.10$ 为具有显著性趋势。

2 结果与分析

2.1 亚麻籽油对断奶仔猪生长性能的影响

由表 3 可知，饲喂 5%玉米油或 5%亚麻籽油饲粮的仔猪生长性能无显著差异（$P>0.05$）。

表 3 亚麻籽油对断奶仔猪生长性能的影响

Table 3 Effects of flaxseed oil on growth performance of weaned piglets

项目 Items	玉米油 Corn oil	亚麻籽油 Flaxseed oil	SEM	*P* 值 *P*-value
初始体重 The initial weight/kg	8.58	9.25	0.21	0.113
屠宰体重 Slaughter weight/kg	19.70	20.60	0.42	0.303
平均日增重 Average daily gain/g	491	515	22	0.463

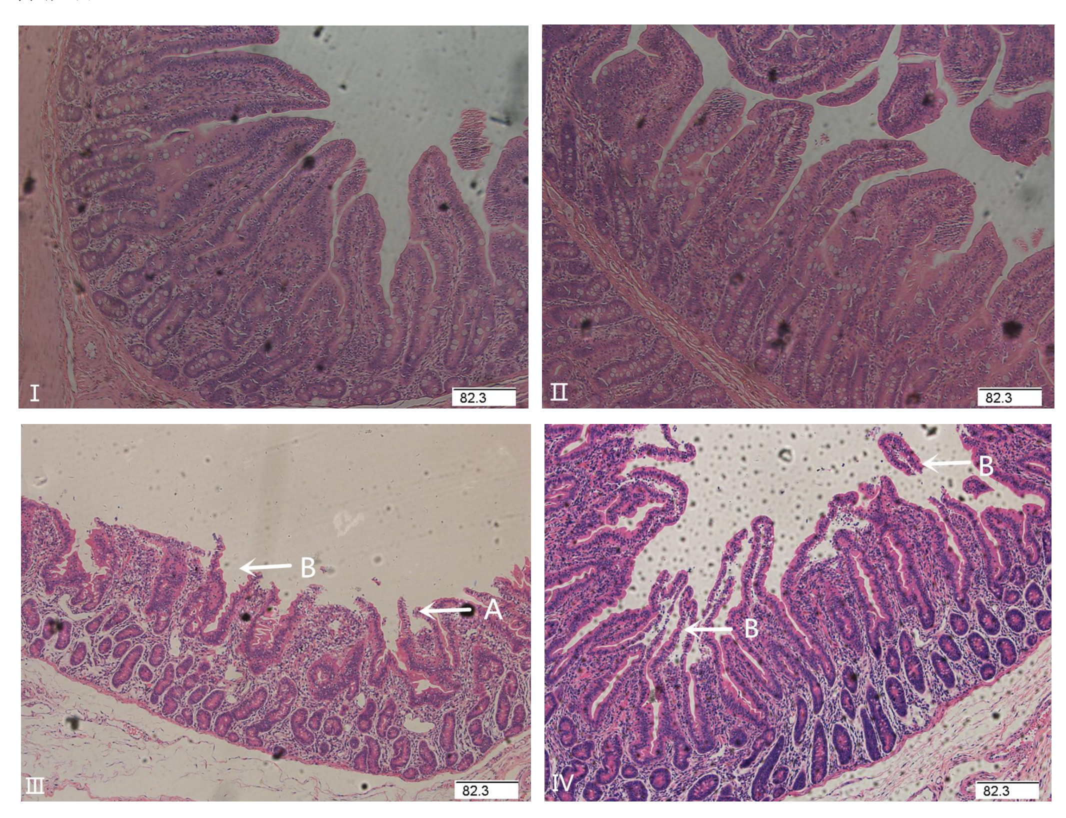
平均日采食量 Average daily intake/g	747	772	28	0.556
料重比 F/G	1.53	1.50	0.04	0.531

同行数据肩标不同小写字母表示差异显著（$P<0.05$），相同字母或者无字母表示差异不显著（$P>0.05$）。下表同。

In the same row, values with different small letter superscripts mean significant difference ($P<0.05$), while with the same letter or no letter superscripts mean no significant difference ($P>0.05$). The same as below.

2.2　亚麻籽油对 LPS 刺激断奶仔猪肠黏膜结构的影响

亚麻籽油对 LPS 刺激断奶仔猪肠黏膜结构的影响见图 1 和表 4。由图 1 可知，注射 LPS 后，仔猪小肠绒毛萎缩、上皮脱落；由表 4 可知，LPS 刺激显著降低了玉米油组仔猪空肠、回肠绒毛高度和空肠隐窝深度（$P<0.05$），LPS 刺激对亚麻籽油组仔猪空肠、回肠绒毛高度无显著影响（$P>0.05$）。



箭头 A 所示为绒毛萎缩；箭头 B 所示为绒毛上皮脱落。

Arrow A referred to as villus atrophy and arrow B referred to as villus epithelium shedding.

图 1　亚麻籽油对 LPS 刺激断奶仔猪肠黏膜结构的影响

Fig.1　Effects of flaxseed oil on intestinal mucosa structure of weaned piglets after LPS challenge (10×)

表 4　亚麻籽油对 LPS 刺激断奶仔猪肠黏膜结构的影响

Table 4　Effects of flaxseed oil on intestinal mucosa structure of weaned piglets after LPS challenge

项目 Items	生理盐水 Saline		脂多糖 LPS		SEM	*P* 值 *P*-value		
	玉米油 Corn oil	亚麻籽油 Flaxseed oil	玉米油 Corn oil	亚麻籽油 Flaxseed oil		饲粮 Diet	脂多糖 LPS	互作 Interaction
空肠 Jejunum								

绒毛高度 Villus height/μm	285[c]	260[bc]	225[a]	237[ab]	9	0.225	0.001	0.017
隐窝深度 Crypt depth/μm	131	129	110	120	6	0.523	0.017	0.292
绒毛高度/隐窝深度 Villus height/crypt depth	2.17	1.95	2.06	1.98	0.09	0.156	0.592	0.616
回肠 Ileum								
绒毛高度 Villus height/μm	293[b]	272[ab]	257[a]	271[ab]	8	0.642	0.024	0.033
隐窝深度 Crypt depth/μm	138	128	125	128	5	0.509	0.195	0.200
绒毛高度/隐窝深度 Villus height/crypt depth	2.12	2.12	2.06	2.12	0.12	0.508	0.508	0.508

2.3 亚麻籽油对 LPS 刺激断奶仔猪肠黏膜细胞的影响

2.3.1 上皮间淋巴细胞

上皮间淋巴细胞是存在于小肠黏膜上皮的一类独特的细胞群，细胞核大而圆，胞浆少，深染（图 2）。由表 5 可知，LPS 刺激有降低空肠上皮间淋巴细胞数目的趋势（P<0.10）；亚麻籽油与 LPS 之间存在互作关系趋势（P<0.10），即 5%亚麻籽油有缓解 LPS 刺激导致空肠、回肠上皮间淋巴细胞数目下降的趋势。

2.3.2 嗜中性粒细胞

嗜中性粒细胞来源于骨髓的造血干细胞，形态不规则，呈多形核分叶状，胞浆呈紫红色（图 3）。由表 5 可知，LPS 刺激显著提高空肠嗜中性粒细胞数目（P<0.05），亚麻籽油对空肠和回肠嗜中性粒细胞数目无显著影响（P>0.05），且亚麻籽油与 LPS 之间对嗜中性粒细胞数目不存在互作关系（P>0.10）。

2.3.3 杯状细胞

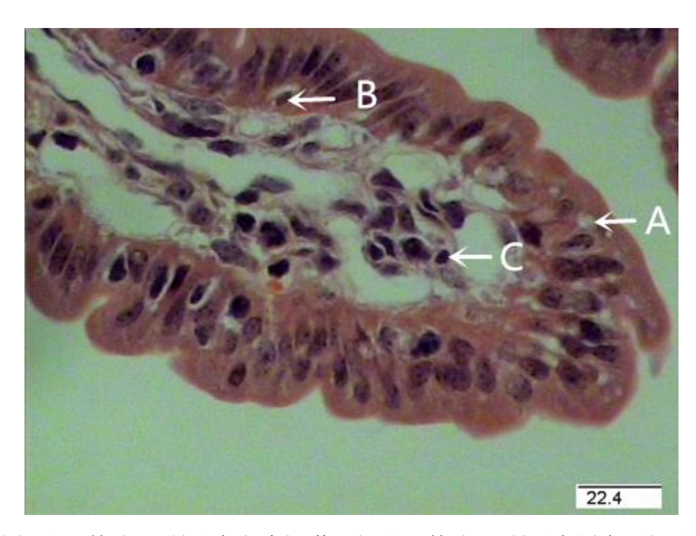
杯状细胞主要分布于肠上皮柱状细胞之间，细胞呈柱状或圆锥形（图 2）。由表 5 可知，LPS 刺激有降低回肠杯状细胞数目的趋势（P<0.10），亚麻籽油对空肠和回肠杯状细胞数目无显著影响（P>0.05），且亚麻籽油与 LPS 之间对杯状细胞数目不存在互作关系（P>0.10）。

2.3.4 固有层细胞密度

固有层内含有大量的淋巴细胞、杯状细胞和嗜中性粒细胞等（图 2）。由表 6 可知，LPS 刺激显著提高空肠固有层细胞密度（P<0.05）；亚麻籽油与 LPS 之间存在显著互作关系（P<0.05），即 5%亚麻籽油显著缓解 LPS 刺激导致的空肠固有层细胞密度的提高。

2.3.5 回肠派氏结细胞密度

派氏结是肠黏膜免疫系统的重要组成部分，是小肠黏膜内的一组淋巴滤泡，是肠黏膜免疫系统的诱导部位之一。由表 6 可知，饲粮中添加 5%亚麻籽油有提高回肠派氏结细胞密度的趋势（P<0.10），LPS 刺激对回肠派氏结细胞密度无显著影响（P>0.05），亚麻籽油与 LPS 之间对回肠派氏结细胞密度不存在互作关系（P>0.10）。

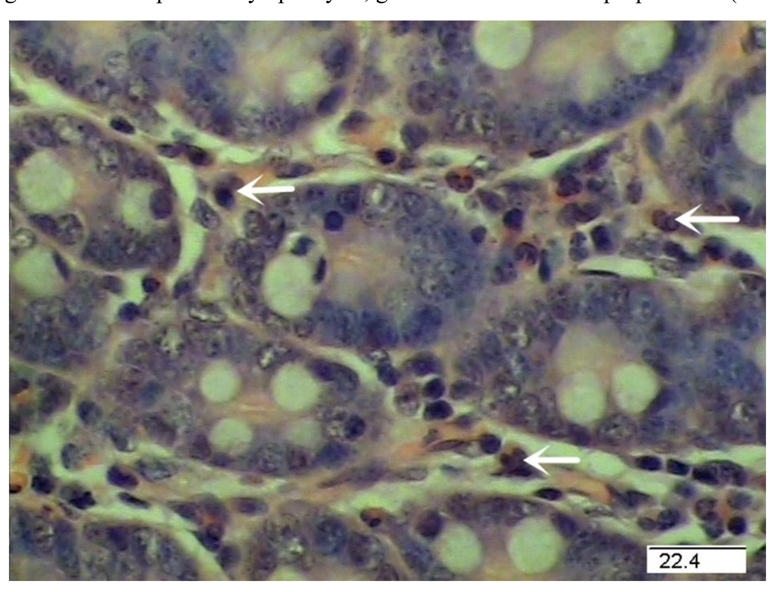


箭头 A 所示为杯状细胞，箭头 B 所示为上皮间淋巴细胞，箭头 C 所示为固有层细胞。

Arrow A referred to as a goblet cell, arrow B referred to as an intraepithelial lymphocyte, and arrow C referred to as a lamina propria cell.

图 2　上皮间淋巴细胞、杯状细胞和固有层细胞

Fig.2　The intraepithelial lymphocytes, goblet cells and lamina propria cells (40×)



箭头所示为嗜中性粒细胞 Arrows referred to as neutrophils。

图 3　嗜中性粒细胞

Fig.3　The neutrophils (40×)

表 5　亚麻籽油对 LPS 刺激断奶仔猪肠黏膜细胞的影响

Table 5　Effects of flaxseed oil on intestinal mucosa cells of weaned piglets after LPS challenge

项目 Items	生理盐水 Saline		脂多糖 LPS		SEM	*P* 值 *P*-value		
	玉米油 Corn oil	亚麻籽油 Flaxseed oil	玉米油 Corn oil	亚麻籽油 Flaxseed oil		饲粮 Diet	脂多糖 LPS	互作 Interaction
空肠 Jejunum								
上皮间淋巴细胞 Intraepithelial lymphocytes/%	16.10	14.10	11.62	14.20	1.19	0.810	0.080	0.069

嗜中性粒细胞 Neutrophils/（个/mm^2）	93	86	111	101	6	0.214	0.022	0.804
杯状细胞 Goblet cells/%	1.55	1.75	2.15	1.63	0.20	0.437	0.260	0.089
回肠 Ileum								
上皮间淋巴细胞 Intraepithelial lymphocytes/%	11.42^{a}	10.04^{a}	9.86^{a}	10.95^{a}	0.56	0.801	0.570	0.041
嗜中性粒细胞 Neutrophils/（个/mm^2）	165	161	176	153	17	0.718	0.639	0.356
杯状细胞 Goblet cells/%	2.77	2.03	1.93	1.79	0.27	0.116	0.059	0.279

表 6　亚麻籽油对 LPS 刺激断奶仔猪肠黏膜固有层细胞密度和回肠派氏结细胞密度的影响

Table 6　Effects of flaxseed oil on the density of intestinal mucosa lamina propria cells and ileal Peyer's patch cells of weaned piglets after LPS challenge.

项目 Items	生理盐水 Saline		脂多糖 LPS		SEM	*P* 值 *P*-value		
	玉米油 Corn oil	亚麻籽油 Flaxseed oil	玉米油 Corn oil	亚麻籽油 Flaxseed oil		饲粮 Diet	脂多糖 LPS	互作 Interaction
空肠 Jejunum								
固有层细胞 Lamina propria cells/（个/mm^2）	18 729^{a}	21 522^{a}	26 726^{b}	19 538^{a}	1 071	0.053	0.011	<0.001
回肠 Ileum								
固有层细胞 Lamina propria cells/（个/mm^2）	11 729^{a}	13 548^{a}	13 835^{a}	12 240^{a}	736	0.880	0.594	0.031
派氏结细胞 Peyer's patch cells/（个/mm^2）	24 107^{a}	25 998^{b}	25 230^{ab}	24 996^{ab}	422	0.064	0.887	0.020

3　讨　论

小肠不仅是机体消化吸收的主要场所，也是防御细菌、病毒、内源蛋白等有害物质的第一道屏障，它能阻止这些有害物质穿过肠黏膜侵入体内，保护动物机体的健康[11]。亚麻籽油含有大量的 ALA，而 ALA 在体内能部分转化为 EPA 和 DHA[5]。研究表明，EPA 和 DHA 可有效地改善动物肠黏膜屏障功能[12]。我们前期研究也发现鱼油（富含 EPA 和 DHA）通过抑制肠道炎性细胞因子的产生对肠道起保护作用[6]。但是，亚麻籽油对肠黏膜屏障的作用还存在争议[7]，因此，我们猜想亚麻籽油也有与鱼油类似的作用。本试验通过在仔猪腹膜注射 LPS 建立肠道损伤模型，研究饲粮中添加 5%亚麻籽油对仔猪肠道结构损伤的保护作用。

肠道形态学是衡量小肠结构和功能完整性的主要指标之一，包括绒毛高度、隐窝深度及其比值[13]。肠黏膜受损后，肠绒毛会表现出萎缩、脱落及隐窝深度加深等现象，绒毛高度与隐窝深度的比值也会下降[14]。本试验中，LPS 刺激显著降低肠绒毛高度，表明 LPS 刺激损伤了肠黏膜结构，这与 Pi 等[15]和 Touchette 等[16]研究一致。同时，在 LPS 刺激下饲粮添

加 5%亚麻籽油对肠黏膜结构有显著互作，说明亚麻籽油对 LPS 刺激所导致的肠道损伤有保护作用。与我们研究结果类似，Jonecova 等[17]研究表明，亚麻籽油能缓解仔猪肠道形态结构的损伤。然而，饲粮中添加 5%玉米油或 5%亚麻籽油对仔猪的生长性能的影响无显著差异，这主要是由于亚麻籽油在应激及炎症的情况下，才对仔猪肠道形态结构起保护作用，而正常饲喂情况下，亚麻籽油并不能增加采食量。

上皮屏障、生物屏障和免疫屏障共同组成肠黏膜屏障。上皮屏障由完整的肠上皮细胞和上皮细胞之间的紧密连接构成。生物屏障是由处于动态平衡之中正常的微生物群构成。免疫屏障包括肠集合淋巴结（派氏结）、肠黏膜上皮细胞、固有层淋巴细胞及其他免疫细胞[18]。这三大屏障的完整性决定了肠黏膜屏障功能的完整性，对维护肠道的健康至关重要。

上皮间淋巴细胞是一种免疫细胞，具有抑制肠黏膜超敏反应、中和细菌和病毒等产生的有害物质和分泌淋巴因子等功能，因此在肠黏膜免疫屏障保护中，上皮间淋巴细胞起到了关键的作用[18]。上皮间淋巴细胞数目减少通常和小肠形态结构受损有关[19]。本试验结果表明，LPS 刺激降低了空肠上皮间淋巴细胞数目。Maeshima[20]研究发现，饲粮中添加鱼油可缓解营养所导致的上皮间淋巴细胞的减少。此外，在炎症损伤中，n-3 多不饱和脂肪酸可促进肠黏膜上皮细胞的增生、修复，维持肠黏膜结构的完整性[21]。我们研究发现，饲粮中添加 5%亚麻籽油有缓解 LPS 刺激导致上皮间淋巴细胞数目下降的趋势。这可能是由于亚麻籽油中 ALA 转化为 EPA 和 DHA，促进了肠上皮间淋巴细胞的增殖和分化，从而保护肠黏膜结构的完整性与免疫功能。

嗜中性粒细胞也是具有吞噬和杀菌双重作用的一种免疫细胞，具有很强的趋化作用。当机体出现炎症时，嗜中性粒细胞集中于炎症部位，参与炎症反应。本试验中，LPS 刺激导致空肠嗜中性粒细胞数目增加，这可能是由于 LPS 刺激后，肠道产生过量的炎性细胞因子。研究表明，亚麻籽油具有抗炎作用[22]，但是我们的研究结果发现亚麻籽油对嗜中性粒细胞数目无显著影响，其机理还不清楚，有待进一步研究。

杯状细胞是混在肠黏膜上皮中的一种分泌黏液的分泌细胞，分泌的糖蛋白涂布在上皮细胞表面，通过黏附来阻挡细菌、病毒等有害物质对肠黏膜的损伤，具有润滑和保护肠黏膜的双重作用[18]。Rogers[23]研究也发现，细菌、病毒等有害物质以及过敏源、氧自由基等都可诱导杯状细胞的大量增生。本试验结果表明，LPS 刺激有降低回肠杯状细胞数目的趋势。任效瑞[24]研究也发现，LPS 刺激导致回肠杯状细胞数目减少。这可能是由于 LPS 刺激损伤了肠黏膜上皮。

派氏结中含有大量免疫活性细胞，主要有 B 细胞、T 细胞和抗原提呈细胞，他们在诱导免疫活性细胞到肠黏膜的免疫效应部位（肠黏膜上皮、固有层）发挥免疫功能的过程中起重要作用[25-26]。本试验中，饲粮添加 5%亚麻籽油有增加回肠派氏结细胞密度的趋势，这可能是由于亚麻籽油促进派氏结免疫细胞的增殖，保护了肠黏膜屏障功能的完整性。这表明亚麻籽油在一定程度上具有加强肠黏膜免疫屏障的功能。此外，机体在发生炎症时，派氏结细胞

大量增殖。我们发现亚麻籽油还可缓解 LPS 刺激所导致的派氏结细胞的增加，说明亚麻籽油缓解了 LPS 刺激所导致的肠黏膜炎症反应，维持黏膜免疫功能。

固有层是肠黏膜免疫反应的主要场所，其中含有大量的淋巴细胞、树突状细胞、杯状细胞、肥大细胞、巨噬细胞和嗜中性粒细胞等[27]。在胃肠道的黏膜组织中，淋巴细胞又主要集中在固有层[28]。Smith 等[29]研究发现，缩短仔猪断奶日龄会引起肠黏膜炎症，增大肠黏膜固有层细胞密度。本试验中，LPS 刺激显著增加空肠固有层细胞密度，这主要是由于肠黏膜正处于炎症反应中，黏膜屏障功能受到损伤，导致大量的淋巴细胞增殖与分化，这与李志春等[30]的研究结果类似。饲粮添加 5%亚麻籽油显著降低了 LPS 刺激断奶仔猪空肠固有层细胞密度，表明亚麻籽油能缓解 LPS 刺激的炎症反应，从而缓解黏膜免疫功能的损伤。

4 结 论

LPS 刺激可导致仔猪肠黏膜形态结构和免疫功能损伤，5%亚麻籽油在一定程度上维护了 LPS 刺激的断奶仔猪小肠黏膜结构和免疫功能。

参考文献：

[1] BLIKSLAGER A T,MOESER A J,GOOKIN J L,et al.Restoration of barrier function in injured intestinal mucosa[J].Physiological Reviews,2007,87(2):545–564.

[2] MARTÍN-VENEGAS R,ROIG-PÉREZ S,FERRER R,et al.Arachidonic acid cascade and epithelial barrier function during Caco-2 cell differentiation[J].Journal of Lipid Research,2006,47(7):1416–1423.

[3] 黄晶晶.精氨酸对早期断奶仔猪肠粘膜结构和功能的调节作用及其信号机制[D].硕士学位论文.武汉:武汉工业学院,2007.

[4] 朱惠玲,韩杰,谢小利,等.*L*－精氨酸对脂多糖刺激断奶仔猪肠黏膜免疫屏障的影响[J].中国畜牧杂志,2012,48(1):27–32.

[5] HARPER C R,EDWARDS M J,DEFILIPPIS A P,et al.Flaxseed oil increases the plasma concentrations of cardioprotective (n-3) fatty acids in humans[J].The Journal of Nutrition,2006,136(1):83–87.

[6] LIU Y L,CHEN F,ODLE J,et al.Fish oil enhances intestinal integrity and inhibits TLR4 and NOD2 signaling pathways in weaned pigs after LPS challenge[J].The Journal of Nutrition,2012,142(11):2017–2024.

[7] 王海波.亚麻油对脂多糖诱导仔猪肠道和肝脏损伤的调控作用[D].硕士学位论文.武汉:武汉轻工大学,2016.

[8] LIU Y L,HUANG J J,HOU Y Q,et al.Dietary arginine supplementation alleviates intestinal mucosal disruption induced by *Escherichia coli* lipopolysaccharide in weaned pigs[J].British Journal of Nutrition,2008,100(3):552–560.

[9] MERCER D W,SMITH G S,CROSS J M,et al.Effects of lipopolysaccharide on intestinal injury;potential role of nitric oxide and lipid peroxidation[J].Journal of Surgical Research,1996,63(1):185–192.

[10] ALSCHER K T,PHANG P T,MCDONALD T E,et al.Enteral feeding decreases gut apoptosis,permeability,and lung inflammation during murine endotoxemia[J].American Journal of Physiology:Gastrointestinal and Liver Physiology,2001,281(2):G569–G76.
[11] 林刚,王薇薇,武振龙,等.猪肠道屏障功能的营养调控[C]//中国畜牧兽医学会动物营养学分会第十一次全国动物营养学术研讨会论文集.长沙:中国畜牧兽医学会,2012:23–34.
[12] ZHU H L,LIU Y L,CHEN S K,et al.Fish oil enhances intestinal barrier function and inhibits corticotropin-releasing hormone/corticotropin-releasing hormone receptor 1 signalling pathway in weaned pigs after lipopolysaccharide challenge[J].British Journal of Nutrition,2016,115(11):1947–1957.
[13] XUN W J,SHI L G,ZHOU H L,et al.Effects of curcumin on growth performance,jejunal mucosal membrane integrity,morphology and immune status in weaned piglets challenged with enterotoxigenic *Escherichia coli*[J].International Immunopharmacology,2015,27(1):46–52.
[14] 刘玉兰,范伟,孟国权,等.罗格列酮对断奶仔猪肠黏膜结构和抗氧化能力的影响[J].中国畜牧杂志,2010,46(3):15–19.
[15] PI D G,LIU Y L,SHI H F,et al.Dietary supplementation of aspartate enhances intestinal integrity and energy status in weanling piglets after lipopolysaccharide challenge[J].The Journal of Nutritional Biochemistry,2014,25(4):456–462.
[16] TOUCHETTE K J,CARROLL J A,ALLEE G L,et al.Effect of spray-dried plasma and lipopolysaccharide exposure on weaned pigs: Ⅰ.Effects on the immune axis of weaned pigs[J].Journal of Animal Science,2002,80(2):494–501.
[17] JONECOVA Z,TOTH S,CICCOCIOPPO R,et al.Influence of dietary supplementation with flaxseed and *Lactobacilli* on the mucosal morphology and proliferative cell rate in the jejunal mucosa of piglets after weaning[J].International Journal of Experimental Pathology,2015,96(3):163–171.
[18] 马兰,常兰.不同海拔藏绵羊小肠上皮内淋巴细胞、杯状细胞的数量和分布比较及其意义[J].青海医学院学报,2012,33(2):99–102.
[19] KEREN D F.Mucosal IgA elaboration[J].Critica Reviews in Clinical Laboratory Sciences,1989,27(2):159–177.
[20] MAESHIMA K.Japanese and U.S. media coverage of the Iraq War:a comparative analysis[C]//American Political Science Association 2009 Annual Meeting.Toronto:Social Science Electronic Publishing,2009.
[21] 陈逢.鱼油通过 TLR4 和 NOD 信号通路对脂多糖诱导的仔猪肠道、肝脏损伤和肌肉蛋白质降解的调控作用[D].硕士学位论文.武汉:武汉轻工大学,2013.
[22] BOUDRY G,DOUARD V,MOUROT J,et al.Linseed oil in the maternal diet during gestation and lactation modifies fatty acid composition,mucosal architecture,and mast cell regulation of the ileal barrier in piglets[J].The Journal of Nutrition,2009,139(6):1110–1117.

[23] ROGERS D F.The airway goblet cell[J].International Journal of Biochemistry and Cell Biology,2003,35(1):1–6.

[24] 任效瑞.谷氨酸/甘氨酸对脂多糖刺激仔猪肠黏膜免疫屏障损伤的调控作用[D].硕士学位论文.武汉:武汉轻工大学,2015.

[25] GEBERT A,STEINMETZ I,FASSBENDER S,et al.Antigen transport into Peyer's patches:increased uptake by constant numbers of M cells[J].The American Journal of Pathology,2004,164(1):65–72.

[26] 范骏,谢勇,周南进,等.小肠集合淋巴结细胞凋亡对严重烫伤小鼠肠道免疫屏障的影响[J].中华烧伤杂志,2006,22(4):254–257.

[27] 高玉云,蒋宗勇,林映才,等.肠黏膜免疫研究进展和仔猪营养调控[J].中国畜牧杂志,2009,45(15):51–56.

[28] 曲莉,周正任,王丹,等.口服幽门螺杆菌疫苗对小鼠胃粘膜固有层淋巴细胞免疫激活作用的研究[J].中国微生态学杂志,2000,12(4):245–246.

[29] SMITH F,CLARK J E,OVERMAN B L,et al.Early weaning stress impairs development of mucosal barrier function in the porcine intestine[J].American Journal of Physiology：Gastrointestinal and Liver Physiology,2010,298(3):G352–G363.

[30] 李志春,谢遵江,崔宏波,等.小鼠回肠黏膜固有层淋巴细胞在黏膜免疫应答中的形态学观察[J].哈尔滨医科大学学报,2003,37(2):135–136,185.

Effects of Flaxseed Oil on Intestinal Mucosa Structure and Immune Cells of Weaned Piglets after Lipopolysaccharide Challenge

LI Xiangen TU Zhixiao WANG Shuhui WANG Haibo ZHANG Lin QIN Qin WANG Longmei WANG Xiuying LIU Yulan ZHU Huiling*2

(*Hubei Key Laboratory of Animal Nutrition and Feed Science*, *Wuhan Polytechnic University*, *Wuhan* 430023, *China*)

Abstract: The purpose of this study was to investigate the effects of flaxseed oil on intestinal mucosa structure and immune cells of weaned piglets after lipopolysaccharide (LPS) challenge. Twenty-four Duroc×Landrace×Yorkshine crossed-bred weaned piglets with average body weight (BW) of （9.15±0.90） kg were randomly divided into four groups with six replicates each and one pig per replicate. The experiment consisted of a 2×2 factorial design, and the main factors included: 1) diet treatment (5% flaxseed oil or 5% corn oil); 2) immunological challenge (LPS or physiological saline injection). After being fed diets supplemented with 5% corn oil or 5% flaxseed oil for 21 days, pigs were injected intraperitoneally with 100 μg/kg BW LPS or the same doze of saline half and half. At 4 h postinjection, pigs were anaesthetized and slaughtered, and the intestinal samples were collected for analysis. The results showed as follows: 1) LPS challenge significantly decreased villus height in jejunum and ileum as well as crypt depth in jejunum (P<0.05), and significantly increased the lamina propria cell density and the number of neutrophils in jejunum (P<0.05). LPS challenge tended to reduce the number of epithelial lymphocytes (IELs) in jejunum and the number of goblet cells in ileum (P<0.10). 2) LPS challenge did not affect villus height in jejunum and ileum of pigs in flaxseed oil groups (P>0.05). However, dietary 5% flaxseed oil tended to increase the Peyer's patch cell density in ileum (P<0.05), especially under LPS challenge, significantly reduced the lamina propria cell density in jejunum (P<0.05), and tended to increase the number of IELs in jejunum (P<0.10). These results indicate that 5% flaxseed oil can maintain small intestinal mucosa structure and immune function of weaned piglets after LPS challenge.

Key words: flaxseed oil; weaned piglets; lipopolysaccharide; intestinal mucosa immune cells

*Corresponding author, associate professor, E-mail:zhuhuiling2004@sina.com (责任编辑 田艳明)